

Searching PAJ

1/1 ページ

(11)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-091843

(43)Date of publication of application : 06.04.2001

(51)Int.Cl.

G02B 21/00

G02B 26/10

(21)Application number : 11-268757

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 22.09.1999

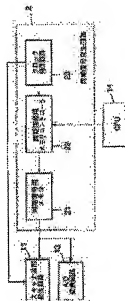
(72)Inventor : ARAI SUKEHITO

(54) SCANNING TYPE LASER MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To output the accurate and precise synchronizing signal however a object to be measured is changed with time by changing the output position of a trigger signal and optionally setting timing for generating a synchronizing signal.

SOLUTION: This scanning type laser microscope is constituted so that the synchronizing signal synchronized with at least either of horizontal scanning or vertical scanning is outputted. Then, the output position of the synchronizing signal can be optionally set for every frame or every line and optionally set in the unit of pixels on the respective frames or the respective lines. Besides, this microscope is provided with a synchronizing signal generation circuit 12 constituted of a memory for a synchronizing signal 21, a synchronizing signal memory controller 22 and a clock generation circuit 23.



(2)

特開 2001-91843

1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 水平及び垂直の少なくとも一方の走査に同期した同期信号を出力する走査型レーザ顕微鏡において、

各フレームまたは各ライン毎に任意に設定でき、且つ各フレームまたは各ライン上で同期信号の出力位置を画素単位で任意に設定できる出力位置設定手段を備えたことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 2】 上記出力位置設定手段は、測定された上記フレームまたはライン上のデータに基づいて以降のフレームまたはライン上の同期信号の出力位置を設定されることを特徴とする請求項 1 記載の走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 3】 上記出力位置設定手段は、出力する同期信号のレベルを可変設定することを特徴とする請求項 1 または 2 記載の走査型レーザ顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、試料上にレーザ光を走査させて画像を得る走査型レーザ顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】 試料上にレーザ光を 2 次元走査させることで、生きた細胞や組織等の試料を備付ることなく、光学的にスライスした断層像を得、複数の断層像から 3 次元画像を得ることが可能な走査型レーザ顕微鏡が従来より用いられている。

【0003】 図 8 は一般的な走査型レーザ顕微鏡のシステム構成を例示するもので、レーザ光源 4 から射出されたレーザ光が、2 次元走査光学系、対物レンズ、試料からの信号光を電気信号に変換する光電変換回路などから構成される光学ユニット 1 の 2 次元走査光学系と対物レンズを介して、測定対象である試料 5 へ導かれ、焦点面内で 2 次元走査される。

【0004】 この走査により試料 5 から反射光または蛍光が発生すると、それが信号光として上記光学ユニット 1 の光電変換回路で取出され、信号光の強度を示す電気信号に試料 5 からの反射光または蛍光を変換した後に制御ユニット 2 へ送られる。

【0005】 制御ユニット 2 では、入力手段 7 からの 2 次元走査光学系の 2 次元走査に対応するように、この電気信号を入力してデジタル値に変換し、上記 2 次元走査に促った上記焦点面の信号光の強度分布からなる濃淡画像を作成して表示装置 6 でモニタ表示させる。

【0006】 また、制御ユニット 2 に接続された電気刺激発生器 3 は、制御ユニット 2 からの上記走査に同期したトリガ信号により、試料 5 に対して電気刺激を与え、該刺激により変化する試料 5 からの信号光の経時変化を測定する。

【0007】 このような走査型レーザ顕微鏡の特徴を活かして、生理学や薬学、細胞生物学等の分野では細胞に

2

対する刺激、例えば電気信号や、熱、薬品などの化学的な刺激に対する反応を 3 次元観測する機器として多く用いられている。

【0008】 さらに最近では、上記刺激に対する経時変化を正確に測定するための測定器としての要求も高まっている。このように正確な経時変化を測定するためには、上記細胞などの試料 5 に対する刺激と、レーザ光の走査と画像の取込みとを正確に同期させる必要がある。

【0009】 走査型レーザ顕微鏡からは、垂直および水平走査の始点あるいは有効期間を示す垂直同期信号及び水平同期信号が常時出力されており、この信号を試料 5 に刺激を与える電気刺激発生器 3 のトリガ入力端子に入力することで、得られる画像フレームの初めのタイミング、あるいはラインの初めのタイミングに上記刺激を発生させて、その後の試料 5 の経時変化を測定することが可能となる。

【0010】 しかしながら、このような方法では、常に出力される同期信号を使用することから、任意のフレームあるいは任意のラインを選択して刺激を発生させたり、刺激の発生、停止を任意に制御することが困難となる。

【0011】 そこで、フレーム内で任意のラインを選択して、刺激の発生、停止を選択できるような同期信号の発生回路を有する光走査型顕微鏡が特開平 10-10436 号公報（以下「第 1 の先行例」と称する）に開示されている。

【0012】 この顕微鏡によれば、任意のフレームにおいて指定したラインでトリガ信号を発生させることが可能となる。

【0013】 一方、同様の同期信号を用いて、走査型レーザ顕微鏡の照明光であるレーザの選光手段を制御し、試料に対する照射位置を必要最小限にとどめる装置（以下「第 2 の先行例」と称する）も提案されている。具体的には、高速でレーザ光の透過/遮光を制御する音響光学素子に、あらかじめフレーム内でのレーザ照射位置をトリガ信号出力位置に記憶させ、レーザ光の 2 次元走査に同期して、レーザ光の試料への走査をオン/オフ制御している。

【0014】

【発明が解決しようとする問題点】 しかしながら、上述した第 1 の先行例においては、指定したラインにおけるトリガの出力を任意のフレーム毎に制御できるものではあるが、出力するラインを指定する設定手段と、フレームを管理する同期回路との間には一切の同期関係がないため、フレーム毎に出力位置を変更することができない。

【0015】 さらに、上記設定手段はライン単位で出力位置を管理するため、ライン上での出力位置を制御することができない。

【0016】 また、上記第 2 の先行例においては、予め

50

(3)

特開2001-91843

4

3

フレーム内のトリガ出力位置を設定するため、各フレームでの出力位置は同一であり、試料の位置的、化学的変化に応じて出力位置を変化させることができない。

【0017】また、上記第1及び第2の先行いずれにおいても、用いる同期信号はオン/オフを制御するだけの2値のデジタル信号であり、出力レベルに応じたより細かい制御のための設定をすることができない。

【0018】本発明は上記のような実情に鑑みてなされたもので、その目的とするところは、トリガ信号を出力する位置が変更可能で、同期信号を発生させるタイミングを任意に設定可能とし、測定対象のどのような経時変化に対しても正確且つ精密な同期信号を出力することが可能な走査型レーザ顕微鏡を提供することにある。

【0019】

【問題点を解決するための手段】請求項1記載の発明は、水平及び垂直の少なくとも一方の走査に同期した同期信号を出力する走査型レーザ顕微鏡において、各フレームまたは各ライン毎に任意に設定でき、且つ各フレームまたは各ライン上で同期信号の出力位置を画素単位で任意に設定できる出力位置設定手段を備えたことを特徴とする。

【0020】このような構成とすれば、各フレームあるいは各ライン毎に任意に設定でき、且つ各フレームまたは各ライン上で同期信号の出力位置を画素単位で任意に設定できるため、例えば、測定対象である細胞への刺激と、細胞の特定画素位置における経時変化を正確に測定することが可能となる。

【0021】請求項2記載の発明は、上記請求項1記載の発明において、上記出力位置設定手段は、測定されたフレームまたはライン上のデータに基づいて以降のフレームまたはライン上の同期信号の出力位置を設定されることを特徴とする。

【0022】このような構成とすれば、上記請求項1記載の発明の作用に加えて、測定された上記フレームあるいはライン上のデータに基づいて同期信号の出力位置を設定することで、測定対象の経時変化に応じて、同期信号の出力位置を変更させることが可能となる。

【0023】請求項3記載の発明は、上記請求項1または2記載の発明において、上記出力位置設定手段は、出力する同期信号のレベルを可変設定することを特徴とする。

【0024】このような構成とすれば、上記請求項1または2記載の発明の作用に加えて、同期信号の出力位置と出力レベルが設定できるようになり、時間的な正確さと共に、得られるデータに対応して動作する、この走査型レーザ顕微鏡に外部接続された機器を精密に制御することが可能になる。

【0025】

【発明の実施の形態】（第1の実施の形態）以下本発明の第1の実施の形態に係る走査型レーザ顕微鏡について

図面を参照して説明する。

【0026】なお、走査型レーザ顕微鏡全体のシステム構成については、上記図8で示したものと基本的に同様であるため、同一部分には同一符号を付すものとして、その図示及び説明は省略する。

【0027】しかして、主として制御ユニット2内の構成について図1により説明する。

【0028】制御ユニット2は、光学ユニット1内の2次元走査光学系に使用されるスキャナの駆動波形を発生するスキャナ波形発生回路11、光学ユニットの光電変換回路から出力される電気信号をデジタルデータに変換するA/D変換回路13、これらの回路を同期して動作させるための同期信号を発生する同期信号発生回路12、上記A/D変換回路13により得られたデジタルデータから画像データを作成して上記表示装置6に表示させる画像表示回路16、上記画像データやスキャナ波形発生回路11で使用する波形データなどを保存するシステムメモリ15、及びこれら各回路を統括制御するCPU14などにより構成される。

【0029】スキャナ波形発生回路11は、同期信号発生回路12から発生する垂直/水平同期信号及びピクセルクロックに合せて、予め設定されているスキャナ駆動波形を発生し、上記レーザ光を試料5の焦点面内で2次元に走査するようスキャナを駆動する。これにあわせて光学ユニット1から出力される光強度を示す電気信号がA/D変換回路13に入力され、そのデジタル出力を上記水平/垂直同期信号及びピクセルクロックによりサンプリングしてデジタルデータに変換する。

【0030】このデジタルデータは、上記光強度の情報であり、CPU14により、画像として画像表示回路16を介してCRTなどで構成される表示装置6へ表示させるか、画像データとしてシステムメモリ15に格納、保存される。

【0031】次に図2を用いて上記同期信号発生回路12の詳細な回路構成を示す。

【0032】図2に示す如く、同期信号発生回路12は同期信号用メモリ21、クロック発生回路23、及び同期信号メモリコントローラ22から構成される。

【0033】同期信号メモリコントローラ22は、その内部にクロック発生回路23からのクロックにより動作するカウンタを有するもので、この同期信号メモリコントローラ22からの信号を受けて記憶する同期信号用メモリ21は、垂直同期用、水平同期用、トリガ信号用の少なくとも3ビットのデータ幅のデータを、最低でも1フレーム分のデータ長だけ記憶する容量が必要となる。

【0034】次いで上記実施の形態の動作について説明する。

【0035】図3は主として制御ユニット2のCPU14による制御動作の処理内容を示すものであり、画像の取得に先立ってCPU14は、取得する画像のサイズに

(4)

特開2001-91843

6

5
合わせて同期信号用メモリ21に1フレーム分の水平／垂直同期信号を書込み（ステップS11）、また画像の取得範囲として使用する同期信号用メモリ21の開始アドレスを設定し（ステップS12）、それから同期信号メモリコントローラ22のカウントをスタートさせる。

【0036】該カウンタからの出力は、開始アドレスからクロック発生回路23の出力するクロック毎にカウントアップされ、上記メモリ長に達したところで、開始アドレスに戻るようになっている。この出力により、同期信号用メモリ21の内容が読出され、まず1フレーム分の画像が取得される（ステップS13）。

【0037】この得られた1フレーム分の画像は画像表示回路16により表示装置6で表示されるもので（ステップS14）、この表示に対してこの走査型レーザ顕微鏡の操作者がマウスやキーボードなどの入力手段7を使用して設定入力を行なうのを待機する（ステップS15）。

【0038】しかして、入力手段7からの入力があったと判断した時点で、入力手段7より表示装置6での表示に基づいて入力される、電気刺激を発生させるためのトリガ信号の出力位置のフレーム番号及び画像上の位置（ライン位置及び画素位置）を指定するデータを受け取る（ステップS16）。

【0039】CPU14は入力されたデータを基に、同期信号用メモリ21、同期信号メモリコントローラ22に対して必要な設定を行い、同期信号メモリコントローラ22内のカウンタを再度スタートさせ、画像の取込みを開始する（ステップS17）。

【0040】以後、取得されるフレームが設定された番号のフレームであれば（ステップS18）、電気刺激を画像中の任意位置で発生するようにトリガ信号の出力位置のセットを電気刺激発生器3に行なった上で（ステップS20）、画像の取得を行なう（ステップS21）。

【0041】また取得されるフレームが設定された番号のフレームでなければ（ステップS18）、電気刺激のセットを行わずに、単に画像の取得を行なう（ステップS19）。

【0042】あらかじめ操作者が設定した任意のフレーム内の任意の画素位置においてのみ電気刺激を発生させることができるもので、こうして得られる試料5内の経時変化をとらえた複数の画像は順次表示装置6で表示されると共に（ステップS22）、システムメモリ15に記憶させる（ステップS23）。

【0043】また、上述したステップを続けない場合は、処理を終了する（ステップS24）。

【0044】上記第1の実施の形態では、設定するフレーム数分のメモリ長を確保しなければならないが、クロック発生回路23で発信する周波数に対して、CPU14の速度が十分に速い場合には、同期信号用メモリ21

を、FIFOメモリあるいはデュアルポートメモリとして構成し、走査の開始後、順次データを書込んでいくようにしてもよい。

【0045】また、CPU14の速度によらず、システムメモリ15と同期信号用メモリ21間でデータを直接に高速で転送ができるよう、同期信号メモリコントローラ22にDMA（Direct Memory Access）機能を設けるようにしてもよい。

【0046】以上本発明の第1の実施の形態によれば、各フレームあるいは各ライン毎に同期信号の出力位置を画素単位で任意に設定できるようになり、例えば、測定対象である細胞への刺激と、細胞の経時変化を正確に測定することが可能となる。

【0047】なお、本実施の形態では、制御ユニット2に接続する外部接続機器として電気刺激発生器3を用いた場合を例示しているが、画像の取得と時間的な同期を確保する必要のあるような機器であれば、これに限定されるものではない。

【0048】（第2の実施の形態）以下本発明の第2の実施の形態に係る走査型レーザ顕微鏡について図面を参照して説明する。

【0049】なお、走査型レーザ顕微鏡全体のシステム構成については上記図8で示したものと、制御ユニット2内の構成については図1で示したものと、そして同期信号発生回路12内の詳細な回路構成については図2に示したものと、それぞれ基本的に同様であるものとして、同一部分には同一符号を付してその図示及び説明は省略する。

【0050】次いで上記実施の形態の動作について説明する。

【0051】図4は主として制御ユニット2のCPU14による制御動作の処理内容を示すもので、画像の取得で先立ってCPU14は、取得する画像のサイズに合わせて同期信号用メモリ21に1フレーム分の水平／垂直同期信号を書込み（ステップS31）、また画像の取得範囲として使用する同期信号用メモリ21の開始アドレスを設定し（ステップS32）、それから同期信号メモリコントローラ22のカウントをスタートさせる。

【0052】該カウンタからの出力は、開始アドレスからクロック発生回路23の出力するクロック毎にカウントアップされ、上記メモリ長に達したところで、開始アドレスに戻るようになっている。この出力により、同期信号用メモリ21の内容が読出され、まず1フレーム分の画像が取得される（ステップS33）。

【0053】この得られた1フレーム分の画像は画像表示回路16により表示装置6で表示されるもので（ステップS34）、この表示に対してこの走査型レーザ顕微鏡の操作者がマウスやキーボードなどの入力手段7を使用して設定入力を行なうのを待機する（ステップS35）。

(5)

特開2001-91843

8

7

5)。

【0054】しかして、入力手段7からの入力があったと判断した時点で、入力手段7より表示装置6での表示に基づいて入力される、電気刺激を発生させるための第1の条件としての、トリガ信号の出力位置のフレーム番号及び画像上の位置(ライン位置及び画素位置)を指定するデータを受付ける(ステップS36)。

【0055】CPU14は入力されたデータを基に、同期信号用メモリ21、同期信号メモリコントローラ22に対して必要な設定を行なう。

【0056】その後、電気刺激の発生状態を変更するための条件として、例えば各フレームまたはライン上の特定の画素データの位置と、その画素データの輝度値を超えるか否かを判断するためのしきい値を設定する(ステップS37)。

【0057】その後、上記変更するための条件を満たした場合の電気刺激を発生させるための第2の条件として、やはりトリガ信号の出力位置の番号のフレーム及び画像上の位置(ライン位置及び画素位置)を指定するデータを受付ける(ステップS38)。

【0058】こうして2つの電気刺激を発生させるための条件と、これを切換えるための条件とを設定し終えたこととなるので、同期信号メモリコントローラ22内のカウンタを再度スタートさせ、画像の取込みを開始する(ステップS39)。

【0059】以後、上記ステップS37で設定された位置の画素データの輝度値が設定したしきい値を超えているか否かを判断し(ステップS40)、超えていない場合には上記ステップS36で設定した、電気刺激を発生させるための第1の条件に基づいて電気刺激を発生させながら画像の取得を行ない(ステップS41)、またはしきい値を超えている場合には電気刺激を発生させるための第2の条件に変更設定して電気刺激を発生させた上で(ステップS42)、やはり画像の取得を行なうことで(ステップS43)、あらかじめ操作者が設定した切換え条件に基づいて電気刺激を発生させるための条件を切換えて、観察を続行することができるもので、こうして得られる試料5内の経時変化をとらえた複数の画像は順次表示装置6で表示されると共に(ステップS44)、システムメモリ15に記憶させる(ステップS45)。

【0060】また、上述したステップを繰り返さない場合は、処理を終了する(ステップS46)。

【0061】図5は、時系列で得られる図5(a)に示すような画像中の特定位置1の画素データの輝度値が予め設定したしきい値を超えた場合にのみ、同位置に電気刺激を発生させるべくトリガ信号を出力するように設定した場合の動作状態を例示するもので、図5(b)に示すように該輝度値がしきい値1thを超えたと判断した時点から、下回ったと判断される時点までの間、各フレーム毎にトリガ信号を出力し続けていることがわかる。

10

20

30

40

50

【0062】なお、上記ステップS37で設定する電気刺激の発生状態を変更するための条件とは、他に例えば、画像データの各フレームまたは特定ライン位置範囲での平均値、分散値などが所定のしきい値を超えるか、あるいは下回るか、などといったことを選択することができるものとする。

【0063】このように本実施の形態によれば、測定されたフレームあるいはラインのデータから、同期信号の出力位置、出力状態を変更設定することで、測定対象の経時変化に応じて同期信号の出力条件を変更させることが可能となる。

【0064】(第3の実施の形態)以下本発明の第3の実施の形態に係る走査型レーザ顕微鏡について図面を参照して説明する。

【0065】図6は走査型レーザ顕微鏡全体のシステム構成について示すもので、ほぼ基本的に上記図8で示したものと同様であるものとして、同一部分には同一符号を付してその説明は省略する。

【0066】しかして、制御ユニット2には電気刺激発生器3に代えてレーザ光量調節器31が接続され、制御ユニット2はその制御を行なう。

【0067】レーザ光量調節器31は、レーザ光源4と光学ユニット1との間に配設され、音響光学素子を用いて構成されるもので、レーザ光源4で発振されたレーザ光の光量を制御ユニット2からの制御に基づいて減衰調節した後に光学ユニット1に供給する。

【0068】上記制御ユニット2内の構成については上記図1で示したものとほぼ同様であるものとし、同一部分には同一符号を付してその図示及び説明は省略する。

【0069】次に、制御ユニット2内の同期信号発生回路12'の構成について図7を用いて説明する。

【0070】同図において、同期信号発生回路12'は、同期信号用メモリ21'、クロック発生回路23、及び同期信号メモリコントローラ22'から構成され、同期信号メモリコントローラ22'は、その内部にクロック発生回路23からのクロックにより動作するカウンタを有するもので、この同期信号メモリコントローラ22'からの信号を受けて記憶する同期信号用メモリ21'は、トリガ信号用に複数nビットのデータを記憶するもので、そのnビットのデータはD/Aコンバータ32に出力されてアナログ化され、上記レーザ光量調節器31へ供給される。

【0071】このような構成とすれば、2次元走査面内で、任意の位置にレーザ光量調節器31によって任意の強度に調節したレーザ光を照明光として与えることが可能となる。

【0072】なお、レーザ光量調節器31はD/Aコンバータ32でアナログ化した信号に基づいてレーザ光量を可変調節するものとして説明したが、複数b1のデジタル信号を受付けることができる外部接続機器に対し

9

ては、D/Aコンバータ32を用いず、同期信号用メモリ21'からのデジタル出力を直接送出することができる。

【0073】また、制御ユニット2に接続する外部接続機器としては、レーザ光量調節器31に限らないことは勿論であり、本実施の形態によれば、そのような外部接続機器を時間的に正確に、且つ精細に制御することが可能になる。

【0074】なお、本発明は上記第1乃至第3の実施の形態に限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲内で種々変形して実施することが可能であるものとする。

【0075】

【発明の効果】請求項1記載の発明によれば、各フレームあるいは各ライン毎に任意に設定でき、且つ各フレームまたは各ラインで同期信号の出力位置を画面単位で任意に設定できるため、例えば、測定対象である細胞への刺激と、細胞の特定画面位置における経時変化を正確に測定することが可能となる。

【0076】請求項2記載の発明によれば、上記請求項1記載の発明の効果に加えて、測定された上記フレームあるいはライン上のデータに基づいて同期信号の出力位置を設定することで、測定対象の経時変化に応じて、同期信号の出力位置を変更させることが可能となる。

【0077】請求項3記載の発明によれば、上記請求項1または2記載の発明の効果に加えて、同期信号の出力位置と出力レベルが設定できるようになり、時間的な正確さと共に、得られるデータに対応して動作する、この走査型レーザ顕微鏡に外部接続された機器を精細に制御することが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施の形態に係る制御ユニット内の構成を示すブロック図。

(6)

特開2001-91843

10

* 【図2】同実施の形態に係る同期信号発生回路内の詳細な回路構成を示すブロック図。

【図3】同実施の形態に係る動作時の処理内容を示すフローチャート。

【図4】本発明の第2の実施の形態に係る動作時の処理内容を示すフローチャート。

【図5】同実施の形態に係る動作状態を例示する図。

【図6】本発明の第3の実施の形態に係る走査型レーザ顕微鏡のシステム全体の構成を示すブロック図。

【図7】同実施の形態に係る同期信号発生回路内の詳細な回路構成を示すブロック図。

【図8】一般的な走査型レーザ顕微鏡のシステム全体の構成を示すブロック図。

【符号の説明】

1…光学ユニット

2…制御ユニット

3…電気刺激発生器

4…レーザ光源

5…試料

6…表示装置

7…入力手段

11…スキャナ波形発生回路

12, 12'…同期信号発生回路

13…A/D変換回路

14…CPU

15…システムメモリ

16…画像表示回路

21, 21'…同期信号用メモリ

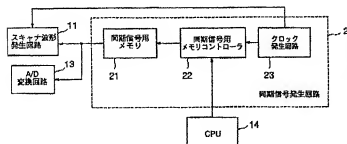
22…同期信号メモリコントローラ

23…クロック発生回路

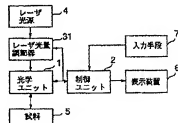
31…レーザ光量調節器

32…D/Aコンバータ

【図2】



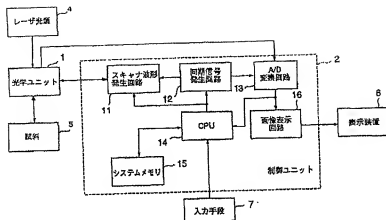
【図6】



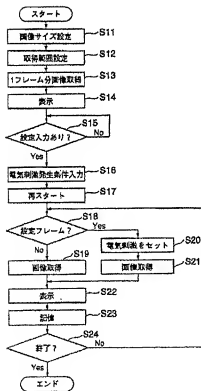
(7)

特開2001-91843

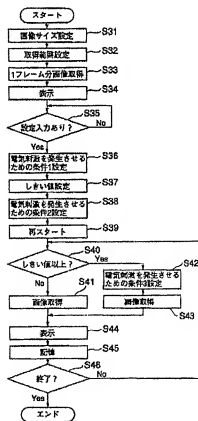
【図1】



【図3】



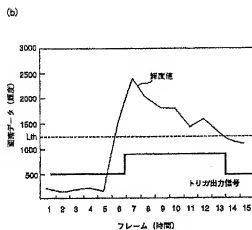
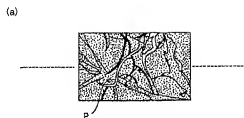
【図4】



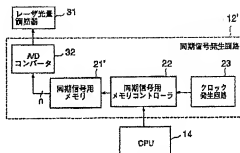
(8)

特開2001-91843

【図5】



【図7】



【図8】





PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-091843
(43)Date of publication of application : 06.04.2001

(51)Int.Cl.

G02B 21/00
G02B 26/10

(21)Application number : 11-268757
(22)Date of filing : 22.09.1999

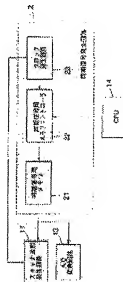
(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD
(72)Inventor : ARAI SUKEHITO

(54) SCANNING TYPE LASER MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To output the accurate and precise synchronizing signal however a object to be measured is changed with time by changing the output position of a trigger signal and optionally setting timing for generating a synchronizing signal.

SOLUTION: This scanning type laser microscope is constituted so that the synchronizing signal synchronized with at least either of horizontal scanning or vertical scanning is outputted. Then, the output position of the synchronizing signal can be optionally set for every frame or every line and optionally set in the unit of pixels on the respective frames or the respective lines. Besides, this microscope is provided with a synchronizing signal generation circuit 12 constituted of a memory for a synchronizing signal 21, a synchronizing signal memory controller 22 and a clock generation circuit 23.



Ref 11

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention relates to the scanning laser microscope which makes a laser beam scan and acquires a picture on a sample.

[0002]

[Description of the Prior Art]The scanning laser beam microscope which the tomogram sliced optically is obtained and can acquire a three-dimensional picture from two or more tomograms by carrying out the two-dimensional scan of the laser beam on a sample without damaging samples, such as a living cell, tissue, etc., is used conventionally.

[0003]Drawing 8 is what illustrates the system configuration of a general scanning laser beam microscope. Via the two-dimensional scanning optical system and object lens of the optical unit 1 which comprise a photoelectric conversion circuit etc. which change a two-dimensional scanning optical system, an object lens, and the optical signal from a sample into an electrical signal, the laser beam ejected from the laser light source 4 is led to the sample 5 which is a measuring object, and a two-dimensional scan is carried out in a focal plane.

[0004]If a reflected light or fluorescence occurs from the sample 5 by this scan, it is taken out as an optical signal in the photoelectric conversion circuit of the above-mentioned optical unit 1, and after changing the reflected light or fluorescence from the sample 5 into the electrical signal which shows the intensity of an optical signal, it will be sent to the control unit 2.

[0005]In the control unit 2, this electrical signal is inputted, it changes into a digital value, the shade image which consists of intensity distribution of the optical signal of the above-mentioned focal plane according to the above-mentioned two-dimensional scan is created, and a monitor display is carried out with the display device 6 so that it may correspond to the two-dimensional scan of the two-dimensional scanning optical system from the input means 7.

[0006]By the trigger signal in sync with the above-mentioned scan from the control unit 2, the

electrical stimulation generator 3 connected to the control unit 2 gives electrical stimulation to the sample 5, and measures aging of the optical signal from the sample 5 which changes with these stimuli.

[0007] Taking advantage of the feature of such a scanning laser beam microscope, it is mostly used in fields, such as physiology, pharmaceutical sciences, cell biology, as apparatus which carries out three-dimensional observation of the reaction to a chemical stimulus of the stimulus to a cell, for example, an electrical signal, heat, medicine, etc.

[0008] Furthermore, these days, the demand as a measuring instrument for measuring aging to the above-mentioned stimulus correctly is also increasing. Thus, in order to measure exact aging, it is necessary to synchronize correctly the stimulus to the samples 5, such as the above-mentioned cell, and the scan of a laser beam and the incorporation of a picture.

[0009] It is firm output of the Vertical Synchronizing signal and Horizontal Synchronizing signal which are vertical and show the starting point or the shelf-life of a horizontal scanning being carried out from the scanning laser microscope, and inputting this signal into the trigger input terminal of the electrical stimulation generator 3 which gives a stimulus to the sample 5. The first timing of the image frame obtained or the first timing of a line is made to generate the above-mentioned stimulus, and it becomes possible to measure aging of the subsequent sample 5.

[0010] However, in such a method, arbitrary frames or arbitrary lines are chosen from using the synchronized signal always outputted, and it becomes difficult to generate a stimulus or to control generating of a stimulus and a stop arbitrarily.

[0011] Then, the light-scanning type microscope which has a generation circuit of the synchronized signal which chooses arbitrary lines within a frame and can choose generating of a stimulus and a stop is indicated by JP,H10-10436,A (the following "1st example of precedence" is called).

[0012] According to this microscope, it becomes possible to generate a trigger signal with the line specified in arbitrary frames.

[0013] On the other hand, using the same synchronized signal, the shading means of the laser which is the illumination light of a scanning laser microscope is controlled, and the equipment (the following "2nd example of precedence" is called) which minimizes the irradiation position to a sample is also proposed. The acoustooptical device which controls a penetration/protection from light of a laser beam at high speed specifically stores the laser radiation position within a frame in a trigger signal output unit beforehand, and ON-and-OFF control of the scan to the sample of a laser beam is carried out synchronizing with the two-dimensional scan of a laser beam.

[0014]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] However, although the output of the trigger in the

specified line is controllable for every arbitrary frames in the 1st example of precedence mentioned above, Since there is none of all synchronous relationship between a setting-out means to specify the line to output, and the synchronous circuit which manages a frame, an output position cannot be changed for every frame.

[0015]Since the above-mentioned setting-out means manages an output position per line, it cannot control the output position on a line.

[0016]In the example of precedence of the above 2nd, since the trigger output position in a frame is set up beforehand, an output position cannot be changed according to a position chemical change [the output position / the output position in each frame is the same, and / a sample].

[0017]In any of the above 1st and the 2nd example of precedence, the synchronized signal to be used is a digital signal of only the binary which controls ON and OFF, and it cannot depend for it according to an output level, and it cannot set up because of fine control.

[0018]The place which this invention was made in view of the above actual condition, and is made into the purpose, The position which outputs a trigger signal can be changed, setting out of the timing which generates a synchronized signal is enabled arbitrarily, and it is in providing the scanning laser beam microscope which can output an exact and precise synchronized signal also to aging like a measuring object throat.

[0019]

[Means for Solving the Problem]In a scanning laser microscope which outputs a synchronized signal in sync with at least horizontal [the invention according to claim 1] and vertical one scan, it had an output position setting-out means by which it could set up arbitrarily for every frame or line, and an output position of a synchronized signal could be arbitrarily set up by a pixel unit each frame or on each line.

[0020]Since it can set up arbitrarily for every frame or line and an output position of a synchronized signal can be arbitrarily set up by a pixel unit each frame or on each line, if it has such composition, For example, it becomes possible to measure correctly a stimulus to a cell which is a measuring object, and aging in a specified pixel position of a cell.

[0021]After the invention according to claim 2 is based on data on the above-mentioned frame or a line where the above-mentioned output position setting-out means was measured in invention given [above-mentioned] in Claim 1, an output position of a synchronized signal on a frame or a line is set up.

[0022]If it has such composition, it will become possible to make an output position of a synchronized signal change according to aging of a measuring object by setting up an output position of a synchronized signal based on data on the above-mentioned frame which added to an operation of invention given [above-mentioned] in Claim 1, and was measured, or a line.

[0023]The invention according to claim 3 carries out variable setting out of the level of a

synchronized signal which outputs the above-mentioned output position setting-out means in invention above-mentioned Claim 1 or given in two.

[0024]If it has such composition, in addition to an operation of invention above-mentioned Claim 1 or given in two, can set up now an output position and an output level of a synchronized signal, and with time accuracy. It becomes possible to control minutely apparatus which operates corresponding to data obtained and by which external connection was carried out to this scanning laser microscope.

[0025]

[Mode for carrying out the invention](A 1st embodiment) A scanning laser microscope which starts a 1st embodiment of this invention below is explained with reference to Drawings.

[0026]About a system configuration of the whole scanning laser microscope, the graphic display and explanation are omitted as what was shown by above-mentioned drawing 8, and a thing which gives identical codes to identical parts since it is fundamentally the same.

[0027]A deer is carried out and drawing 1 mainly explains composition in the control unit 2.

[0028]The control unit 2, The scanner waveform generating circuit 11 which generates a driving waveform to a scanner used for a two-dimensional scanning optical system in the optical unit 1, the A/D conversion circuits 13 which change into digital data an electrical signal outputted from a photoelectric conversion circuit of an optical unit, and these circuits are synchronized. By the synchronizing signal generation circuit 12 and the above-mentioned A/D conversion circuit 13 which generate a synchronized signal for making it operate. It is constituted by the system memory 15 which saves a data point etc. which are used in the image display circuit 16 which creates image data from obtained digital data, and is displayed on the above-mentioned display device 6, and described image data and the scanner waveform generating circuit 11, CPU14 which carry out generalization control of these each circuit, etc.

[0029]The scanner waveform generating circuit 11 generates the scanner driving waveform set up beforehand according to vertical / Horizontal Synchronizing signal, and the pixel clock by which it is generated from the synchronizing signal generation circuit 12, and it drives a scanner so that the above-mentioned laser beam may be scanned to two dimensions in the focal plane of the sample 5. The electrical signal which shows the light intensity outputted from the optical unit 1 in accordance with this is inputted into the A/D conversion circuit 13, the digital output is sampled with the above-mentioned level / Vertical Synchronizing signal, and a pixel clock, and it changes into digital data.

[0030]This digital data is the information on the above-mentioned light intensity.

It is made to display on the display device 6 which comprises CRT etc. via the image display circuit 16 as a picture, or is stored and saved as image data by CPU14 at the system memory 15.

[0031]Next, the detailed circuitry in the above-mentioned synchronizing signal generation circuit 12 is shown using drawing 2.

[0032]As shown in the figure, the synchronizing signal generation circuit 12 comprises the memory 21 for synchronized signals, the clock generation circuit 23, and the synchronized signal memory controller 22.

[0033]The synchronized signal memory controller 22 is what has a counter which operates with the clock from the clock generation circuit 23 to the inside, As for the memory 21 for synchronized signals memorized in response to the signal from this synchronized signal memory controller 22, the object for vertical synchronizations, the object for horizontal synchronizations, and the capacity for trigger signals for which only the data length for at least one frame memorizes the data of the data width of a triplet at least are needed.

[0034]Subsequently, operation of the above-mentioned embodiment is explained.

[0035]Drawing 3 mainly shows the contents of processing of the control action by CPU14 of the control unit 2, and in advance of acquisition of a picture CPU14, According to the size of the picture to acquire, level/Vertical Synchronizing signal for one frame are written in the memory 21 for synchronized signals (Step S11), The start address of the memory 21 for synchronized signals used as an acquisition range of a picture and the memory length to be used are set as the synchronized signal memory controller 22 (Step S12), and the counter of the synchronized signal memory controller 22 is started.

[0036]The output from this counter is counted up for every clock which the clock generation circuit 23 outputs from a start address, and returns to a start address in the place which reached the above-mentioned memory length. The contents of the memory 21 for synchronized signals are read by this output, and the picture for one frame is first acquired (Step S13).

[0037]The picture for this one obtained frame is displayed by the image display circuit 16 with the display device 6, and it stands by that the operator of this scanning laser microscope performs a setting input to this display using the input means 7 of a mouse, a keyboard, etc. (Step S14) (Step S15).

[0038]. Carry out a deer, and when it judges that there was an input from the input means 7, based on a display with the display device 6, are inputted from the input means 7. The data which specifies the position (a line position and a picture element position) on the frame number of the output position of the trigger signal for generating electrical stimulation and a picture is received (Step S16).

[0039]Based on the inputted data, CPU14 performs required setting out to the memory 21 for synchronized signals, and the synchronized signal memory controller 22, starts again the counter in the synchronized signal memory controller 22, and starts the incorporation of a

picture (Step S17).

[0040]Henceforth, if it is a frame of the number to which the frame acquired was set (Step S18), after setting the output position of a trigger signal to the electrical stimulation generator 3 so that electrical stimulation may be generated in the optional position in a picture, acquisition of (Step S20) and a picture will be performed (Step S21).

[0041]If it is not a frame of the number to which the frame acquired was set (Step S18), a picture will only be acquired, without setting electrical stimulation (Step S19).

[0042]It is what can generate electrical stimulation only in the arbitrary picture element positions in the arbitrary frames which the operator set up beforehand. In this way, two or more pictures which caught aging in the sample 5 obtained are displayed with the display device 6 one by one, and (Step S22) the system memory 15 is made to memorize them (Step S23).

[0043]Processing is ended when not continuing the step mentioned above (Step S24).

[0044]As opposed to the frequency which sends in the clock generation circuit 23 although the memory length for the frame number to set up must be secured in a 1st embodiment of the above, When the speed of CPU14 is quick enough, the memory 21 for synchronized signals is constituted as FIFO memory or dual port memory, and it may be made to write in subsequent data after the start of a scan.

[0045]It is not based on the speed of CPU14 but may be made to provide a DMA (Direct Memory Access) function in the synchronized signal memory controller 22 so that transmission can do data directly between the system memory 15 and the memory 21 for synchronized signals at high speed.

[0046]Above, according to a 1st embodiment of this invention, the output position of a synchronized signal can be arbitrarily set up now by a pixel unit for every frame or line, and it becomes possible to, measure correctly the stimulus to the cell which is a measuring object, and aging of a cell for example.

[0047]Although the case where the electrical stimulation generator 3 is used as external connection equipment linked to the control unit 2 is illustrated in this embodiment, if it is apparatus which needs to secure acquisition of a picture, and a time synchronization, it will not be limited to this.

[0048](A 2nd embodiment) The scanning laser microscope which starts a 2nd embodiment of this invention below is explained with reference to Drawings.

[0049]What was shown by above-mentioned drawing 8 about the system configuration of the whole scanning laser microscope, Fundamentally, as same thing, identical codes are given to identical parts and the graphic display and explanation are abbreviated to the thing shown by drawing 1 about the composition in the control unit 2, and the thing shown in drawing 2 about the detailed circuitry in the synchronizing signal generation circuit 12, respectively.

[0050]Subsequently, operation of the above-mentioned embodiment is explained.

[0051] Drawing 4 mainly shows the contents of processing of the control action by CPU14 of the control unit 2, and in advance of acquisition of a picture CPU14, According to the size of the picture to acquire, level/Vertical Synchronizing signal for one frame are written in the memory 21 for synchronized signals (Step S31). The start address of the memory 21 for synchronized signals used as an acquisition range of a picture and the memory length to be used are set as the synchronized signal memory controller 22 (Step S32), and the counter of the synchronized signal memory controller 22 is started.

[0052] The output from this counter is counted up for every clock which the clock generation circuit 23 outputs from a start address, and returns to a start address in the place which reached the above-mentioned memory length. The contents of the memory 21 for synchronized signals are read by this output, and the picture for one frame is first acquired (Step S33).

[0053] The picture for this one obtained frame is displayed by the image display circuit 16 with the display device 6, and it stands by that the operator of this scanning laser microscope performs a setting input to this display using the input means 7 of a mouse, a keyboard, etc. (Step S34) (Step S35).

[0054]. Carry out a deer, and when it judges that there was an input from the input means 7, based on a display with the display device 6, are inputted from the input means 7. The data which specifies the position (a line position and a picture element position) on the frame number of the output position of a trigger signal as the 1st condition for generating electrical stimulation and a picture is received (Step S36).

[0055] Based on the inputted data, CPU14 performs required setting out to the memory 21 for synchronized signals, and the synchronized signal memory controller 22.

[0056] Then, the threshold for judging whether the position and the luminance value of picture element data of the specific picture element data on each frame or a line exceed as conditions for changing the generation state of electrical stimulation, for example is set up (Step S37).

[0057] Then, the data which specifies the position (a line position and a picture element position) on the frame of the number of the output position of a trigger signal and a picture too is received as the 2nd condition for generating the electrical stimulation at the time of fulfilling the conditions for [above-mentioned] changing (Step S38).

[0058] In this way, since the conditions for generating two electrical stimulation and the conditions for switching this will finish being set up, the counter in the synchronized signal memory controller 22 is started again, and the incorporation of a picture is started (Step S39).

[0059] Henceforth, it is judged whether it is over the threshold which the luminance value of the picture element data of the position set up at the above-mentioned step S37 set up (Step S40). A picture is acquired, generating electrical stimulation based on the 1st condition for generating electrical stimulation set up at the above-mentioned step S36, when not having

exceeded (Step S41). When it is over the threshold, after carrying out change setting out at the 2nd condition for generating electrical stimulation and generating electrical stimulation, (Step S42), It is what can switch the conditions for generating electrical stimulation based on (Step S43) and the change conditions which the operator set up beforehand by acquiring a picture after all, and can continue observation, In this way, two or more pictures which caught aging in the sample 5 obtained are displayed with the display device 6 one by one, and (Step S44) the system memory 15 is made to memorize them (Step S45).

[0060]Processing is ended when not continuing the step mentioned above (Step S46).

[0061]Only when the luminance value of the picture element data of the specific point position P in a picture as shown in drawing 5 (a) obtained by a time series exceeds the threshold set up beforehand, drawing 5. It is what illustrates the operating state at the time of setting up output a trigger signal in order to make homotopic generate electrical stimulation, It turns out from the time of judging that this luminance value exceeded the threshold Lth as shown in drawing 5 (b) to the time of it being judged that it was less that output a trigger signal is being continued for every frame.

[0062]With the conditions for changing the generation state of the electrical stimulation set up at the above-mentioned step S37. It shall be chosen whether the average value in each frame or specific line position range of image data, a variance, etc. exceed another predetermined threshold, or it is less.

[0063]Thus, according to this embodiment, it becomes possible to make the output condition of a synchronized signal change according to aging of a measuring object by carrying out change setting out of the output position of a synchronized signal and the output state from the data of the measured frame or a line.

[0064](A 3rd embodiment) The scanning laser microscope which starts a 3rd embodiment of this invention below is explained with reference to Drawings.

[0065]As what drawing 6 shows about the system configuration of the whole scanning laser microscope, and was shown by above-mentioned drawing 8 almost fundamentally, and same thing, identical codes are given to identical parts and the explanation is omitted.

[0066]A deer is carried out, it replaces with the control unit 2 at the electrical stimulation generator 3, the laser intensity regulator 31 is connected, and the control unit 2 performs the control.

[0067]The laser intensity regulator 31 is allocated between the laser light source 4 and the optical unit 1, is constituted using an acoustooptical device, and after it carries out attenuation regulation of the light volume of the laser beam oscillated by the laser light source 4 based on the control from the control unit 2, it is supplied to the optical unit 1.

[0068]It is considered as what was shown by above-mentioned drawing 1 about the composition in the above-mentioned control unit 2, and the almost same thing, identical codes

are given to identical parts, and the graphic display and explanation are omitted.

[0069]Next, the composition of synchronizing signal generation circuit 12' in the control unit 2 is explained using drawing 7.

[0070]In the figure, synchronizing signal generation circuit 12' Memory 21 for synchronized signals', Comprise the clock generation circuit 23 and the synchronized signal memory controller 22, and the synchronized signal memory controller 22, It is what has a counter which operates with the clock from the clock generation circuit 23 to the inside, Memory 21' for synchronized signals memorized in response to the signal from this synchronized signal memory controller 22 memorizes two or more a bit of data to trigger signals, and the data of that n bit is outputted to D/A converter 32, it is analog-ized and is supplied to the above-mentioned laser intensity regulator 31.

[0071]If it has such composition, it will become possible to give the laser beam adjusted about arbitrary intensity with the laser intensity regulator 31 to arbitrary positions as illumination light within a two-dimensional scan layer.

[0072]Although the laser intensity regulator 31 was explained as what carries out the good abnormal-conditions paragraph of the laser intensity based on the analog-ized signal by D/A converter 32, To the external connection equipment which can receive a two or more bits digital signal, direct sending of the digital output from memory 21 for synchronized signals' can be carried out not using D/A converter 32.

[0073]Of course as external connection equipment linked to the control unit 2, it does not restrict to the laser intensity regulator 31, and according to this embodiment, it becomes possible to control such external connection equipment correctly in time and minutely.

[0074]This invention is not limited to the above 1st thru/or a 3rd embodiment, and let it be what has possible changing variously and carrying out within limits which do not deviate from the summary.

[0075]

[Effect of the Invention]Since according to the invention according to claim 1 it can set up arbitrarily for every frame or line and the output position of a synchronized signal can be arbitrarily set up by a pixel unit with each frame or each line, For example, it becomes possible to measure correctly the stimulus to the cell which is a measuring object, and aging in the specified pixel position of a cell.

[0076]according to the invention according to claim 2 -- an effect of the invention given [above-mentioned] in Claim 1 -- in addition, it becomes possible to make the output position of a synchronized signal change according to aging of a measuring object by setting up the output position of a synchronized signal based on the data on the measured above-mentioned frame or a line.

[0077]According to the invention according to claim 3, in addition to an effect of the invention

above-mentioned Claim 1 or given in two, can set up now the output position and output level of a synchronized signal, and with time accuracy. It becomes possible to control minutely the apparatus which operates corresponding to the data obtained and by which external connection was carried out to this scanning laser microscope.

[Translation done.]